

La voie du TGF β

Introduction

Le TGF β (Transforming growth factor beta) est le représentant le plus connu d'une famille importante de facteurs de croissance qui sera étudiée dans ce chapitre, et qui comprend les TGF β et plusieurs sous-familles de facteurs morphogènes comme les BMP (Bone morphogenetic proteins). Les récepteurs de ces facteurs de croissance possèdent une activité enzymatique de sérine/thréonine kinase, ce qui les distingue de la famille des récepteurs portant une activité tyrosine kinase. Ils sont impliqués dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire, mais aussi dans de nombreux autres processus comme l'inflammation et la fibrose. D'une façon générale, la voie du TGF β s'oppose à la prolifération cellulaire, et c'est par son inhibition qu'elle joue un rôle dans l'oncogenèse précoce ; toutefois, elle joue un rôle ambivalent, car elle favorise la dissémination cellulaire et par conséquent la métastase.

Les facteurs de croissance de la famille du TGF β sont homodimériques et sont responsables de la formation, au niveau de la cellule cible, d'un complexe tétramérique fait de deux molécules de récepteur I et de deux molécules de récepteur II. Les récepteurs II phosphorylent les récepteurs I qui à leur tour phosphorylent et activent des facteurs de transcription de la famille SMAD de la drosophile. Ces derniers se lient à une molécule commune, SMAD4, pour former, avec une autre protéine SMAD, un complexe d'activation ou de répression transcriptionnelle qui pourra migrer dans le noyau et contrôler la transcription de gènes cibles spécifiques de chacun des couples facteur de croissance-récepteur. Outre la triade facteur de croissance-récepteur I-récepteur II interviennent des corécepteurs indispensables à la génération du signal.

La voie de signalisation du facteur de croissance transformant β (TGF- β) représente une série de processus de transduction de signal médiés par le facteur de croissance transformant. Cette voie joue un rôle clé dans la prolifération cellulaire, la production interstitielle, la différenciation, l'apoptose, le développement embryonnaire, la formation d'organes, la fonction immunitaire et la réponse inflammatoire.

La voie de signalisation TGF-beta nécessite d'abord l'activation de T β RII par auto-phosphorylation sur ses résidus d'acides aminés Ser213 et Ser409, puis elle interagit avec T β RI et active T β RI. La phosphorylation des résidus de tyrosine peut également se produire sur T β RI. En l'absence de récepteur de type II, le récepteur de type I ne peut pas se lier

indépendamment au TGF- β . La région GS (domaine hautement conservé de résidus de glycine et de sérine) du récepteur de type I est phosphorylée par le récepteur de type II activé, jouant un rôle crucial dans l'activation de la kinase TGF- β RI. Le récepteur de type I activé peut phosphoryler ses signaux en aval, tels que Smad2 et Smad3 activés. Smad2 et Smad3 sont recrutés au récepteur de type I par SARA (smad-anchor for receptor activation). Les Smad2 et Smad3 phosphorylés forment ensuite des complexes trimères avec Smad4. Ce complexe peut entrer dans le noyau et se lier à la région de l'élément de liaison Smad avec l'aide d'auxiliaires de liaison à l'ADN pour induire la transcription, régulant ainsi la prolifération, la différenciation, la migration et l'apoptose cellulaires. Après la transcription, le complexe Smad peut se dissocier, et les R-Smads phosphorylés sont déphosphorylés par une phosphatase dans le noyau (par exemple, PPM1A / PP2C), permettant ainsi à ces molécules de R-Smads de retourner dans le cytoplasme pour former une "boucle Smad".

1. Facteurs affectant la voie de signalisation TGF- β 1/Smads

Dans les organismes, la voie de signalisation TGF- β est contrôlée par divers facteurs, tels que les conditions microenvironnementales, les cytokines et les facteurs de croissance, les microARNs (MiARNs), l'ARN long non codant, les kinases phosphorylées et déphosphorylées, l'ubiquitine ligase et l'enzyme diubiquitine, et d'autres facteurs.

Récepteur TGF- β : Les récepteurs de la superfamille TGF- β sont principalement composés de trois sous-types de récepteurs TGF- β RII et TGF- β RIII, incluant des domaines extracellulaires, transmembranaires et intracellulaires. L'hétéropolymère composé de deux molécules T β RI et deux T β RII contient le récepteur fonctionnel. Le récepteur de type III du TGF- β est un récepteur auxiliaire et n'est pas directement impliqué dans la transduction du signal. La fonction principale du TGF- β est d'augmenter la capacité de liaison du TGF- β à la surface cellulaire et de fournir du TGF- β aux récepteurs de type I et II. T β R III peut également inhiber la métastase, l'invasion, la croissance et l'angiogenèse des cellules tumorales, présentant une valeur potentielle dans la thérapie tumorale.

Smads : Les Smads sont des molécules importantes de transduction et de régulation du signal dans les cellules, pouvant transférer directement le signal TGF- β de la membrane cellulaire au noyau. Les Smad régulés par le récepteur (R-Smads) sont un substrat direct des kinases de récepteur de type I, liés à la spécificité de la voie de transduction du signal; le Smad commun-médiateur (Co-Smad) est nécessaire pour la translocation de tous les signaux TGF- β dans le noyau; Les Smads suppressifs de la transduction du signal (I-Smads) impliqués dans tous les

membres de la superfamille TGF- β sont des régulateurs négatifs de la voie de signalisation TGF- β /Smad. Ils inhibent la phosphorylation des R-Smads en se liant au récepteur T β R-I activé, bloquant ainsi la voie de signalisation et l'effet biologique du TGF- β .

Thrombospondine S1 (THB-S1) : THB-S1 induit l'agrégation plaquettaire et inhibe l'angiogenèse. C'est un activateur important du TGF- β dans la cicatrisation des plaies, l'adhésion cellulaire, la migration, la prolifération et la différenciation. Il peut changer la conformation du TGF- β , exposer son site de liaison au récepteur cellulaire puis activer la voie de signalisation du TGF- β .

Protéine associée à la kinase S-phase 1 (protéine associée à la kinase de la phase S/SKP1) : une protéine multifonctionnelle impliquée dans la régulation du cycle cellulaire. SKP1 peut également servir de régulateur en aval de la voie de signalisation TGF- β /Smads pour la dégradation par l'ubiquitine

2. Les récepteurs et leur activation

Au niveau des cellules cibles de cette voie de signalisation, les récepteurs des ligands des sous-familles TGF β et BMP sont des protéines membranaires à un seul domaine transmembranaire, avec un domaine extracellulaire destiné à la reconnaissance du ligand et un domaine intracellulaire pourvu d'une activité sérine/thréonine kinase.

Ces récepteurs, de structure voisine, sont de deux types, I et II, qui se distinguent en particulier par la présence d'une « boîte glycine-sérine » (GS box) dans le domaine juxtamembranaire des récepteurs de type I. De plus, des corécepteurs, qui sont également des protéines membranaires de la cellule réceptrice, sont mis en jeu pour la transduction du signal. Outre la complexité naturelle du système, déjà lourde, s'ajoute la diversité des nomenclatures. Le tableau 5-1 tente de récapituler ces données.

Il existe sept récepteurs de type I, nommés ALK (Activin receptor-like kinase), d'ALK1 à ALK7. Le récepteur I des TGF β est unique ; il se nomme TGFBR1, T β R1 ou ALK5. Les récepteurs I des autres facteurs de la sous-famille TGF β sont le plus souvent ALK2, ALK4 et ALK7 (ACVR1A, ACVR1B et ACVR1C) et ceux des facteurs de la sous-famille BMP sont le plus souvent ALK3 et ALK6 (BMPR1A et BMPR1B).

Il existe cinq récepteurs de type II ; de la même façon, le récepteur II du TGF β est unique (TGFBR2 ou T β R2) ; les récepteurs II des facteurs de la sous-famille TGF β sont les

ACVR2A et ACVR2B ; les récepteurs II des facteurs de la sous-famille BMP sont soit les mêmes ACVR2A et ACVR2B, soit le BMPRII.

Il existe un certain nombre de corécepteurs qui ne sont sans doute pas tous identifiés ; ce peut être le β -glycane ou TGFBR3 pour le TGF β , la protéine cripto pour les facteurs de la sous-famille TGF β , les protéines RGM (Repulsive guidance molecule) A et B pour les facteurs de la sous-famille BMP et l'endogline (ENG) pour les BMP9 et 10.

Signalons enfin l'existence de récepteurs leurres, comme la protéine BAMBI (BMP and activin membrane-bound inhibitor homolog), qui présentent une analogie de structure avec les récepteurs de type I, mais ont un domaine intracytoplasmique réduit, dépourvu d'activité kinase ; ces molécules apportent une régulation négative à la voie de signalisation.

La plupart des facteurs de croissance dimériques de la famille TGF β -BMP se lient dans un premier temps à deux molécules de récepteur de type II qui recrutent ensuite deux molécules de récepteur de type I et les phosphorylent ; c'est l'inverse qui se produit pour BMP2 et 4. Dans tous les cas, le complexe actif est un ensemble hexamérique dont la structure a pu être obtenue à l'état cristallin. La variété des combinaisons possibles explique la variété des messages qui peuvent être transduits par cette voie de signalisation, c'est-à-dire son caractère pléiotrope. La phosphorylation du récepteur de type I se fait au niveau de la GS box, en amont du domaine catalytique.

Elle entraîne un changement de conformation qui libère le site catalytique sérine/thréonine kinase du récepteur I qui peut alors phosphoryler les protéines SMAD. La protéine FKBP12 (FK506-binding protein) se lie à la GS box du récepteur I lorsqu'elle n'est pas phosphorylée et empêche l'activation du récepteur en l'absence du signal apporté par le TGF β .

La transmission du signal apporté par les facteurs de la famille du TGF β À la complexité de la combinatoire des facteurs et de leurs récepteurs et corécepteurs s'oppose la relative simplicité des voies de transduction du signal . Les facteurs de la sous-famille TGF β sont responsables de l'activation par phosphorylation des facteurs de transcription SMAD2 et SMAD3 et ceux de la sous-famille BMP des facteurs de transcription SMAD1, SMAD5 et SMAD8. La liaison de ces protéines SMAD « primaires » ou R-SMAD avec la protéine SMAD4 leur permet de migrer dans le noyau où ils pourront reconnaître les séquences des promoteurs de leurs gènes cibles respectifs. Deux protéines de la même famille, SMAD6 et SMAD7, sont des inhibiteurs compétitifs des R-SMAD au niveau des récepteurs activés et empêchent leur phosphorylation.

Enfin, il faut noter que la spécificité de l'interaction ligandrécepteur est loin d'être aussi univoque que mentionné plus haut ; c'est ainsi qu'ALK1 peut être recruté par le TGF β s'il est exprimé en quantité suffisante par la cellule, ce qui conduit à l'activation de facteurs SMAD1, 5 ou 8 au lieu des facteurs SMAD2 ou 3, et donc à des conséquences différentes, voire opposées, au niveau des gènes cibles.

Plusieurs protéines interviennent pour contrôler la phosphorylation des protéines SMAD par les récepteurs ; en particulier la protéine SARA (SMAD anchor for receptor activation), qui recrute SMAD2 au niveau du complexe de réception activé et apparaît indispensable à sa phosphorylation. La destruction des complexes de réception est assurée par endocytose et destruction par le protéasome après action d'une E3 ubiquitine ligase (voir Annexe C) qui est nommée SMURF (SMAD ubiquitination regulating factor).

Les protéines SMAD possèdent deux domaines fonctionnels, les domaines MH1 (MAD homology domain 1) et MH2 (MAD homology domain 2), séparés par un domaine de liaison riche en proline. Le domaine MH1 est responsable de la liaison avec l'ADN, mais le domaine possédant l'activité transcriptionnelle est MH2, qui est également responsable des interactions entre protéines SMAD. Ce domaine contient la séquence SSXS qui est la cible de la phosphorylation par les récepteurs ALK. Cette phosphorylation induit un changement de conformation qui libère le domaine MH2 du domaine MH1, ce qui permet l'activation de la voie. Les facteurs de transcription SMAD recrutent des coactivateurs et des corépresseurs transcriptionnels, de telle sorte que, selon le contexte (c'est-à-dire la nature des protéines nucléaires disponibles dans une cellule donnée à un moment donné), le stimulus TGF β peut activer ou réprimer la transcription de nombreux gènes différents.

En dehors de la voie canonique de signalisation, qui passe par l'activation des protéines SMAD, les facteurs de croissance de la famille du TGF β sont capables d'activer la voie des MAP kinases, et cela aussi bien pour la voie ERK que pour la voie p38 et la voie JNK. À l'inverse, les facteurs de transcription SMAD peuvent être phosphorylés par les MAP kinases, en particulier ERK, sur des sites qui peuvent entraîner leur activation ou leur inhibition selon les cas.

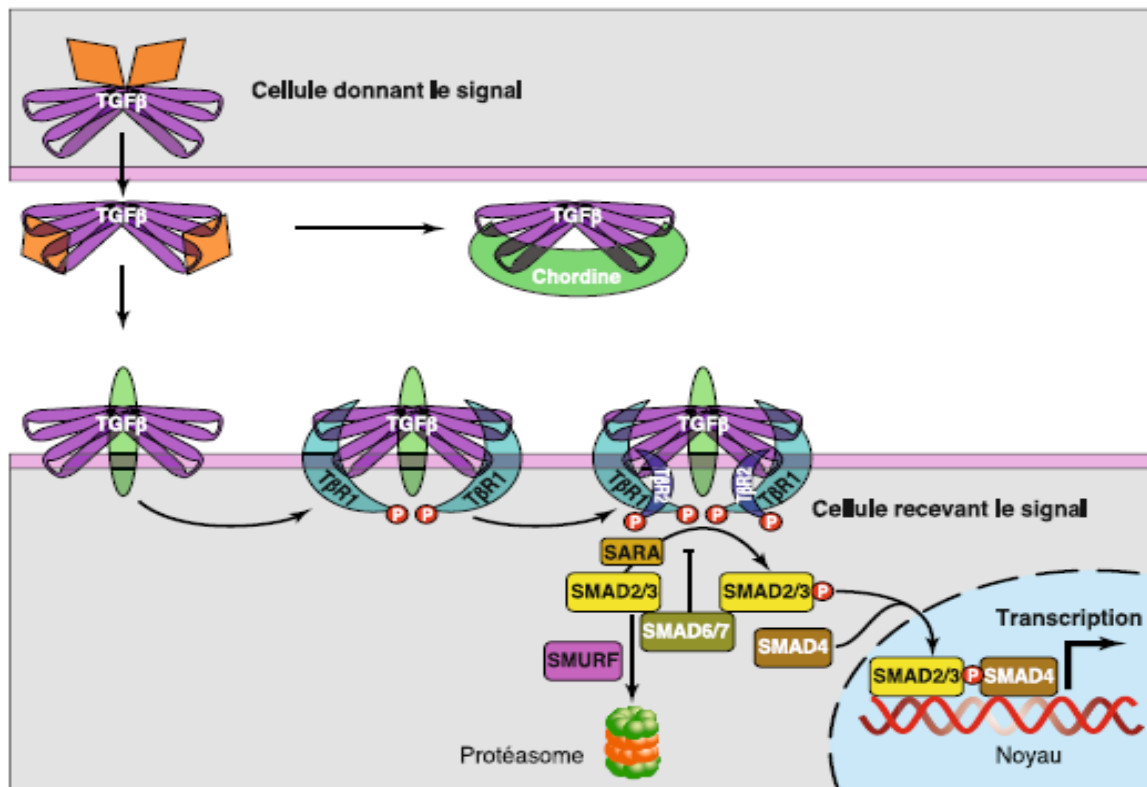


Fig. 1 – La voie de signalisation du TGFβ.

Le précurseur du TGFβ est clivé dans le réticulum endoplasmique, mais la partie N-terminale (losanges) reste liée au TGFβ par liaison non covalente. Dans le milieu extracellulaire, il est susceptible d'être inactivé par liaison avec des protéines comme la chordine. Il est reconnu sur une cellule cible par un récepteur de type II, le TβR2 ou TGFBR2 dont il permet la dimérisation et l'autophosphorylation croisée. Le récepteur de type II recrute et phosphoryle deux molécules de récepteur de type I, le TβR1 ou TGFBR1 ou ALK5. Le complexe hexamérique est susceptible de s'associer à un corécepteur comme le β-glycane (TGFBR3) ou l'endogline. Le récepteur de type I est capable de phosphoryler un facteur de transcription SMAD2 ou SMAD3 grâce à l'intervention d'une protéine d'ancrage, SARA. Cette phosphorylation peut être inhibée par une autre protéine SMAD, SMAD6 ou SMAD7. Le facteur de transcription phosphorylé est associé à SMAD4 pour migrer dans le noyau, reconnaître des coactivateurs ou des corépresseurs et présider à la transcription de très nombreux gènes cibles. Les protéines SMAD peuvent être entraînées vers le protéasome par une ubiquitine ligase, SMURF.